

FACULTE DE PHARMACIE

Série U

N° 13

**CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES CARACTÈRES
CULTURAUX DES BACILLES TUBERCULEUX
DE TYPE HUMAIN, BOVIN, AVIAIRE
ET PARATUBERCULEUX**

THÈSE

**pour l'obtention du diplôme de Docteur de l'Université de Paris
(Pharmacie)**

présentée et soutenue le 4 Juillet 1938

par

Yvette A. BLONDEL

Interne des hôpitaux psychiatriques et de l'Institut du Cancer

Diplômée de Sérologie de l'Université de Paris

Diplômée d'Hématologie

JURY { MM. GORIS, Président
RÉGNIER, Maître de Conférences
JANOT, Maître de Conférences

EDITIONS JIES

38, Boulevard Garibaldi - PARIS (15°)

1938

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES CARACTÈRES
CULTURAUX DES BACILLES TUBERCULEUX
DE TYPE HUMAIN, BOVIN, AVIAIRE
ET PARATUBERCULEUX

THÈSE

pour l'obtention du diplôme de Docteur de l'Université de Paris
(Pharmacie)

présentée et soutenue le 4 Juillet 1938

par

Yvette A. BLONDEL

*Interne des hôpitaux psychiatriques et de l'Institut du Cancer
Diplômée de Sérologie de l'Université de Paris
Diplômée d'Hématologie*

JURY { MM. GORIS, Président
RÉGNIER, Maître de Conférences
JANOT, Maître de Conférences

EDITIONS JIES

38, Boulevard Garibaldi - PARIS (15^e)

1938

PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS

ADMINISTRATION

MM. GUÉRIN, *Doyen*, O. * * I.

P. LEBEAU, *Assesseur*, O. * * I. Membre de l'Institut.

H. J. LIONNET, *Secrétaire*, * O.I.

PROFESSEURS

MM. GUERIN O. * * I.	Botanique générale
LEBEAU, O. * * I. Membre de l'Institut .	Pharmacie chimique.
GORIS, O. * * I.	Pharmacie galénique.
DAMIENS, * * I.	Chimie minérale
HÉRISSEY, O. * * I.	Chimie biologique.
SOMMELET, * * I.	Chimie organique
LUTZ, * * I.	Cryptogamie et Microbiologie.
FABRE, * * I.	Toxicologie.
LAUNOY, O. * * I.	Zoologie
DELABY, * * I.	Chimie analytique.
PICON, * I.	Physique
MASCRÉ, * I.	Histoire naturelle des médicaments simples d'origine végétale.

Doyen honoraire : M. RADAIS, O. * * I.

Professeurs honoraires :

MM, BÉHAL, G.O. * * I. et DELÉPINE, O. * * I., membres de l'Institut
GUERBET, * * I., PERROT, C. * * I., COUTIERE, O. * * I.
BOUGAULT, O. * * I. et TASSILLY, O. * * I.

MAITRES DE CONFÉRENCES

BACH, * I.	Microbiologie
FLEURY, * I.	Hydrologie et Hygiène
BEDEL, * I.	Minéralogie et Législation et Déontologie pharmaceutiques
RÉGNIER, * I.	Parasitologie
CHARONNAT, * I.	Chimie et Pharmacie chimique
JANOT	Pharmacie galénique et biologie végétale

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. DOMANGE. Travaux pratiques de 1 ^{re} année	Chimie générale et pharmaceutique.
GAUTIER, Travaux pratiques de 2 ^e et 3 ^e année	Chimie analytique
PARIS	Micrographie
X.	Physique
DEVAL, * * I.	Microbiologie

Bibliothécaire en Chef : M. GARNIER, * A.



A LA MEMOIRE DE MON PERE

A MA MERE

A MON FRERE

A MA BELLE-SŒUR

A MES NEVEUX

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR A. GORIS

Directeur de la pharmacie centrale des hôpitaux
et hospices civils.

Officier de la Légion d'honneur.

*Hommage de notre reconnaissance
respectueuse pour le grand honneur
qu'il nous a fait en acceptant la
présidence de cette thèse.*

A MONSIEUR J. REGNIER

Maitre de Conférences
Pharmacien chef à l'hôpital Ambroise-Paré.

Hommage de respectueuse reconnaissance.

A MONSIEUR M.-M. JANOT

Maitre de Conférences.

*Avec l'expression de notre vive
gratitude.*

INTRODUCTION ET HISTORIQUE

Ce fut J.-A. VILLEMIN (1), chirurgien militaire français, qui dans une communication à l'Académie des Sciences (déc. 1868) donna les détails de l'inoculation d'un matériel humain tuberculeux à neuf lapins, puis montra que la tuberculose bovine est transmissible au lapin et la tuberculose humaine au cobaye. Il put même établir que la tuberculose bovine était plus virulente pour le lapin que la tuberculose humaine.

Lui succédant, avec la découverte du bacille auquel il donna son nom (1882), Robert KOCH et les premiers bactériologistes considéraient identiques entre eux, quant à la virulence, les bacilles tuberculeux de la poule et des mammifères. Il établit dans la suite de ses travaux son point de vue (que suivirent KLEBS et d'autres auteurs) que le bacille de l'homme et des animaux étaient identiques. Il eut le grand mérite, ayant établi la présence constante du bacille dans les lésions, de l'isoler en cultures pures et de produire des tubercules par l'inoculation de ces cultures à des animaux sains.

Les expériences de ARLOING et TRIPIER (2), de NOCARD (1887) (3), paraissaient étayer l'hypothèse de KOCH.

Mais ensuite d'autres expériences, et non moins

(1) VILLEMIN (J.-A.). — Etudes sur la tuberculose. *J.-B. Baillière et fils*. Paris, 1868.

(2) ARLOING et DUFOUR. — Transmission du virus tuberculeux par voie transplacentaire chez la femelle de cobaye tuberculisée avec un filtrat de produits tuberculeux humains. *C. R. Acad. Sc.*, 1925, 826.

(3) NOCARD et ROUX. — Sur la nature du bacille de la tuberculose. *Ann. Inst. Pasteur*, 1887, 19.

concluantes que les précédentes, vinrent nettement contredire les résultats jusque-là établis.

Un certain nombre d'auteurs, dont WURTZ et STRAUSS, H. MARTIN (1), WEBER et BOFINGER (2), ne purent rendre des poules tuberculeuses en inoculant ou en faisant ingérer des produits tuberculeux d'origines diverses.

MAFFUCCI (1893) (3) établit de même des différences culturelles entre le bacille aviaire et le bacille des mammifères, notamment pour les températures les plus favorables à la croissance.

Mais c'est surtout à THÉOBALD SMITH (4) que revient la découverte des caractères différenciels des bacilles bovin et humain.

Il présenta à la « Association of american physicians » une étude comparative d'une souche de bacille bovin et d'une souche humaine, et établit leurs différents caractères morphologiques et biologiques. Il observa deux ans plus tard les mêmes différences entre sept souches humaines et huit souches bovines. Il décrivit ainsi, avec une grande maîtrise, les caractères de développement propres à ces deux variétés. Il fut aussi le premier qui utilisa les différences de virulence comme moyen d'identification.

Pendant plusieurs années la découverte de SMITH passa inaperçue et ce fut une véritable révolution quand, tournant bride délibérément, KOCH se déclara convaincu et proclama en 1901, à la commission royale de Londres (5), que la tuberculose humaine diffère de la tuberculose du

(1) CALMETTE. — L'infection bacillaire et la tuberculose chez l'homme et les animaux. *Masson*, 1928.

(2) WEBER et BOFINGER. — Bedeutung der Rinderbacillen für den Menschen. *Tuberk. Arbeit*, Berlin, I, 83.

(3) MAFFUCCI. — La tubercolosi bívina sotto il rapporto industriale igienico. *Fiforma Medica*, mai 1890.

(4) SMITH THEOBALD. — The relation between bovine and human tuberculosis. *Tr. A. Am. Phy.*, II, 1896, 75. *J. Exper. Med.*, 1898, 470.

(5) KOCH R. — Trans. Brit. Cong. ou Tub. Londres (Clowes and Sons) 1, 1902, p. 23.

boeuf et ne peut pas être transmise au veau par inoculation.

« Je n'hésite pas, écrit-il, à considérer les bacilles de la tuberculose des poules comme une espèce à part, quoique très rapprochée, des vrais bacilles de la tuberculose. Il en résulte un problème important pour la pratique, à savoir si le bacille de la tuberculose des poules est pathogène pour l'homme. Cette question ne pourra être résolue que quand on aura réussi, par des recherches suivies, à rencontrer un jour ce bacille chez l'homme, ou à établir par une série suffisante de constatations négatives qu'il n'existe pas dans l'espèce humaine. » (1)

On considérerait donc désormais deux variétés possibles de bacille tuberculeux, les variétés humaine et bovine, l'aviaire représentant une espèce un peu différente.

Cette théorie mit un temps assez considérable avant d'être classiquement admise (2), les différences de caractères culturels et le pouvoir pathogène ne semblant pas suffisamment péremptoires à un certain nombre d'auteurs pour admettre cette distinction.

Dès 1868, Chauveau (3) avait pu démontrer que lorsque l'on injecte ou fait ingérer à de jeunes bovins des produits venant d'un homme phthisique, on détermine des lésions tuberculeuses s'étendant aux ganglions, aux poumons et aux viscères. De même l'existence d'une infection humaine par le bacille bovin, signalée comme possible par Th. SMITH en 1898, fut démontrée par ce même auteur en 1904.

La tuberculose est donc due, pour lui, à un bacille tuberculeux de type humain ou bovin, le bacille aviaire ne

(1) CALMETTE. — L'infection bacillaire et la tuberculose chez l'homme et les animaux. *Masson*, 1928.

(2) LAPORTE (R.). — Etude microbiologique du bacille tuberculeux du type bovin. *Ann. Inst. Pasteur*, octobre 1936, 400.

(3) CHAUVEAU dans CALMETTE. — L'infection bacillaire et la tuberculose chez l'homme et les animaux. *Masson*, 1928, 343.

jouant presque aucun rôle, du moins en Grande-Bretagne.

La commission royale de 1911 (1) donne le détail suivant sur 108 cas de tuberculoses variées ; bacille humain, 84 cas ; bacille bovin, 19 cas.

Les proportions relatives de ces différents types varient suivant les formes cliniques et anatomo-pathologiques de la maladie, et suivant le stade de l'évolution. Le bacille humain fut trouvé dans 83,2 % des cas, sur une série d'enfants de moins de treize ans. Les lésions primaires étaient surtout intrathoraciques (dans 82 % des cas).

La tuberculose bovine est une source importante de tuberculose humaine plus en Grande-Bretagne qu'en Europe et Amérique du Nord, plus nettement encore en Ecosse.

Nous citerons succinctement quelques-unes des statistiques obtenues sur la fréquence du bacille bovin pour les différents pays :

En *Angleterre* (2) on trouve sur 113 cas de tuberculose chez des enfants de moins de treize ans : 94 cas du type humain et 18 du type bovin.

Le bacille bovin-représente donc 16,8 % des cas totaux et pour des enfants de moins de cinq ans : 21,3 %.

En *Ecosse*, les résultats établirent que l'on trouvait le bacille bovin dans les crachats d'un grand nombre de phtisiques, ce qui permit d'admettre la transmission possible d'homme à homme par les crachats.

MITCHELL trouva le bacille bovin dans 65 à 90,3 % des cas.

FRASER (3) rapporte de 41 à 61,2 % par le bacille bovin, 23 par le bacille humain et 3 par les deux.

Cette proportion remarquablement élevée serait due à

(1) Reports of the Royal Commission on tuberculosis, Wyman and Sons, *Londres*, 1904-1911.

(2) GRIFFITH A.-S. — *Journ. path. and bact.*, 1920, 23, 29.

(3) FRASER. — *Journ. of. Experiment. med.* 1912, 16, 432.

la contamination possible, à la fois par voie humaine et par le bétail.

En *Allemagne*, par contre, on ne trouve, sur 78 cas d'enfants morts, qu'un seul cas dû au type bovin, 75 étant dus au bacille humain, et 2 d'un type indéterminé.

Citons encore en *Norvège*, sur 50 cas, 47 dus au bacille humain, 2 au bacille bovin, et 1 au mélange des deux, proportion également très réduite comparativement aux statistiques écossaises. (1)

Enfin les résultats obtenus à Paris par Et. BRUNET montrent que l'infection d'origine bovine est très rare dans la population parisienne. Cet auteur a pu isoler le bacille humain de trente et un cas de tuberculose ganglionnaire, onze de tuberculose articulaire et seize de tuberculose cutanée. Pas une seule fois il n'a trouvé le bacille bovin.

Les formes de tuberculose humaine d'origine bovine, qui sont en France beaucoup moins nombreuses que dans les pays britanniques, tiennent probablement à l'usage du lait cuit pour l'alimentation des nourrissons. Le lait de vache est, en effet, un facteur important de transmission de l'infection tuberculeuse.

Ainsi donc, dans la tuberculose humaine, dont l'agent responsable est presque toujours le bacille humain, il y a lieu cependant de faire une part au bacille bovin, principalement dans les formes de tuberculose du jeune âge.

Le bacille bovin, qui joue, en effet, un rôle dans la formation des principales variétés et des formes anatomiques humaines de tuberculose, est responsable, pour une grande part, de la mortalité générale, surtout chez les enfants.

Sur une série d'enfants tuberculeux, d'origines diverses, morts avant treize ans, on le découvrit dans 16,8 % de cas (Griffith). Environ 70 % des enfants infectés par le

(1) CALMETTE. — L'infection bacillaire et la tuberculose chez l'homme et les animaux. Masson 1928.

bacille bovin meurent de tuberculose généralisée ou méningée. Les lésions établissent clairement que c'est la voie buccale la porte d'entrée habituelle du bacille.

Les formes cliniques sont surtout cervicales, méningées, osseuses, articulaires, génito-urinaires.

Mais sous toutes ses formes l'infection bovine atteint surtout les enfants de moins de cinq ans. (Pour Calmette : 6 à 10 % de cas totaux.) Elle n'est cependant pas négligeable chez l'adulte et l'adolescent ; la tuberculose méningée bovine atteignant 25 % de sujets de moins de quinze ans.

Quant au problème de la tuberculose aviaire et de sa transmission possible à l'homme, qui ne semblait même pas devoir se poser du temps de WURTZ, il apparaît maintenant comme une infection qui, alors même qu'elle ne serait que possible, est d'une importance suffisante.

STRAUS et GAMALEIA (1) montrèrent les premiers les caractères particuliers de la tuberculose aviaire. Ils parlaient de la rate d'une poule ensemencée sur sérum, gélose simple, gélose glycinée, gélose sucrée ou milieux à l'œuf.

Au point de vue morphologique, le bacille aviaire, que nous avons obtenu directement à partir d'organes prélevés immédiatement après la mort, sur des animaux inoculés par des souches aviaires, est semblable au bacille humain.

Il se présente en bâtonnets allongés, parfois granuleux, colorés par la méthode de ZIEHL-NIELSEN et acido-résistants comme le bacille humain.

BANG (2), en 1907, constata que les espèces d'oiseaux

(1) STRAUS et GAMALEIA. — Recherches expérimentales sur la tuberculose. La tuberculose humaine, sa distinction de la tuberculose des oiseaux. *Archives de médecine expérimentale*, 1891, 31, 457.

(2) BANG (O.). — Geflügel Tuberkulose und Saugetiertuberkulose. *Centralbl. f. Baktr.*, 1907, 34. — Das Geflügeltuberculin als diagnostisches Mittel bei der chronischen pseudotuberkulösen Darmenzuchung des Rindes. (Johnes disease.) *Centralbl. f. Baktr.*, 1908, 48.

domestiques ou en captivité peuvent contracter la tuberculose aviaire. Les plus atteints étaient les animaux de basse-cour : poules, faisans, pigeons, paons, etc...

Mme PHISALIX (1903) (1) cite dans les jardins zoologiques : les vautours, autruches, comme étant susceptibles de contamination.

RIEGLER (2) étudie la corneille ; STRAUS les oies ; VAN ES (3), enfin, s'attache aux moineaux qui picorent les poulaillers infectés.

Les oiseaux, de même que les mammifères, sont, en effet, sensibles à l'infection tuberculeuse, celle-ci se propageant surtout dans les espèces vivant au voisinage de l'homme, en état de captivité ou de domesticité. Dans aucun pays on ne l'observe chez les espèces sauvages.

Encore que la contamination des oiseaux par l'homme ne soit pas scientifiquement démontrée, et que, au contraire, la contamination expérimentale ait échoué la plupart du temps, on est en droit de se demander si l'espèce aviaire n'est pas infectée par l'homme ou les animaux, puisque c'est seulement à l'état de domesticité ou du voisinage humain que les oiseaux contractent la tuberculose. En retour, il ne semble pas impossible que l'espèce aviaire puisse infecter l'homme ; la littérature médicale en montre quelques exemples.

On a, en effet, publié jusqu'alors un nombre d'observations assez grand pour que la chose ne paraisse pas sans importance : citons simplement les publications faites à

(1) PHISALIX Mme. — *Bulletin du museum d'histoire naturelle* 1903, 368.

(2) RIEGLER (P.). — La tuberculose chez la corneille. *Arch. veterinaria*, N° 3, 1912.

(3) VAN ES. — *Berl. tierarztl. Wochenschr.*, 1914, 575.

ce sujet par JOANNOVIC (1), L'ESPÉRANCE (2), KRUSE (3), Max KOCH et Lydia RABINOVITCH (4), PANSINI (5), SAENZ et SAYÉ (6), DEBRÉ, BOQUET, SAENZ et LELONG (7), et tout récemment, Henri BONNET, THIEFFRY et Mlle MONTÉFIORE (8). L'ensemble de ces publications connues représentant environ une vingtaine de cas.

La connaissance de ces faits nous incite à la prudence, et nous oblige à ne pas considérer le bacille tuberculeux aviaire comme tout à fait indifférent pour l'espèce humaine, ainsi qu'on a généralement tendance à le dire. Mais il importe de ne pas donner l'étiquette de « bacille aviaire » à la légère, et sans avoir fait, au préalable, l'étude bactériologique complète de la souche envisagée ; cette étude comporte, nous le savons, les caractères morphologiques, les caractères cultureux, les qualités pathogènes expérimentales du microbe.

Quant au bacille acido et alcoolo-résistant infectant les animaux à sang froid, il semble bien que cette espèce s'éloigne considérablement des espèces humaine, bovine et aviaire et en tout cas leur rôle dans la diffusion tuberculeuse des mammifères est nul ; c'est pourquoi nous les

(1) JOANNOVIC. — Tuberkulose des Menschen, hervorgerufen durch eben Erreger der Vogeltuberkulose. (*Bacillus tuberculosis avium*.) *Wien. med. Woch.* janvier 1923.

(2) L'ESPÉRANCE. — Pel' Ebstein's syndrome of tuberculous origin. *Jour. Imm.*, 1930, 18, 133, 139.

(3) KRUSE. — Ueber das Vorkommen der Huhnertuberkulose beim Menschen und bei Säugetieren (dans Nattan-Larrier. *Traité de Microbiologie. Doin et Cie*, 1931, 899).

(4) KOCH (M.) et RABINOVITSCH (L.). — Die Tuberkulose der Vogel und ihre Beziehungen zur Säugetiertuberkulose. *Virchow's Archiv.*, CXC, 246.
Virchow's Archiv. exc, p. 246.

(5) PANSINI (dans Nattan-Harrier, *Traité de microbiologie, Doin et Cie* 1931, p. 899).

(6) SAENZ et SAYÉ. — *Bull. Un. intern. contre la tuberc.* 1934, 11, 31.

(7) DEBRÉ, BOQUET, SAENZ, Marcel LELONG. — *Soc. méd. hôp. Paris*, 8 fév. 193, p. 211.

(8) Henri BONNET, THIEFFRY, Mlle MONTÉFIORE. — *C. R. bio.*, juin 1938.

excluons délibérément de cette étude, laquelle comporte les bacilles para-tuberculeux avec lesquels ils se confondent.

Ce fut peu après la découverte de KOCH, que ZAHN (1) en 1884 attira l'attention sur la présence, dans les crachats d'un sujet non phthisique, de microbes dont la morphologie était très voisine du bacille tuberculeux classique, et comme lui aussi acido-résistant.

Un très grand nombre d'auteurs, parmi lesquels nous citerons ALVAREZ (1885) (2), RABINOWITCH (1900) (3), OPHULS (1904) (4), etc..., en trouvèrent d'analogues. Ils sont extrêmement communs dans la nature, et on les rencontre dans tous les milieux, poussières, peau et muqueuses de l'homme et des animaux.

Très peu, heureusement, sont virulents, parmi lesquels le bacille de la lèpre, d'HANSEN; de l'entérite des bovidés, de JOHNE; de la lèpre des rats de STÉPHANSKY.

Ils présentent au microscope le même aspect que les bacilles tuberculeux. Ils sont presque tous cultivables sur les milieux usuels glycélinés ou glucosés.

Nous nous attacherons dans ce travail à l'étude des caractères cultureux des différents types de bacilles tuberculeux, pensant qu'il n'est pas inutile de fixer, d'une façon précise, sur des milieux définis, le comportement des différentes espèces, ce qui permet, dans une certaine mesure, de faire une différenciation déjà correcte et assez rigoureuse des espèces.

(1) ZAHN. — Thèse, Tübingen, 1884 : chez *Schweizbart*, Stuttgart.

(2) ALVAREZ et TAVEL. — Recherches sur le bacille de Lustgarten. *Archives de physiologie normale et pathologique*, 1885, 303.

(3) RABINOWITSCH (L.). — Das Tuberculin und die Frühdiagnose der Tuberkulose. *Arb. a. d. Kaiserl-Gesundheitsamt*, 1904.

(4) OPHULS W. — *Journ. of Med. Research*, 1904, 11, 439.

Avant d'attaquer l'exposition des résultats de nos travaux, il nous est un devoir d'exprimer ici notre profonde gratitude à M. le professeur Robert DEBRÉ qui nous fit le très grand honneur de bien vouloir nous accueillir dans son laboratoire.

Nous remercions également M. le docteur Henri BONNET, chef de travaux de bactériologie à la Faculté de médecine, qui nous a guidé au cours de ce travail de ses conseils éclairés et précis et de ses incessants encouragements.

Nos remerciements vont aussi à tous nos camarades du laboratoire de bactériologie pour leur bienveillante sympathie.

CHAPITRE I

CARACTERISTIQUES DU BACILLE TUBERCULEUX

Le *mycobacterium tuberculosis hominis* (qui appartient au genre *corynebacterium*) est aérobie et pousse à une température variant de 29° à 42° C. (optimum 37°, 38° C. pour les mammifères et 40° C pour l'aviaire).

Il requiert des milieux solides contenant des substances albumineuses ou de la glycérine. Le milieu doit avoir une réaction neutre PH : 7, PH : 7,6 et une surface sèche. Une surface trop humide n'est pas favorable, mais une légère humidité de condensation à la base du tube est avantageuse.

Le développement est assez lent et les colonies ne se montrent pas visibles à l'œil avant le 8^e, 10^e jour, quelquefois plus.

Les caractéristiques sont entièrement différentes suivant l'espèce du bacille à laquelle nous avons affaire.

On s'est ingénié, pour ces différentes catégories de bacilles, à déterminer les conditions de milieu les plus parfaites pouvant permettre l'identification de ces différents types.

Il faut prévenir les milieux contre la sécheresse, particulièrement les milieux naturels à la pomme de terre. C'est à NOCARD et ROUX (1887) (1) que revient le mérite d'avoir les premiers ajouté de la glycérine, qu'ils avaient

(1) NOCARD et ROUX. — Sur la nature du bacille de la tuberculose. *Ann. Inst. Pasteur*, 1887, 19.

pensé utiliser d'abord pour ses propriétés hygroscopiques.

La présence de glycérine favorise la pousse des souches humaine, aviaire et bovine mais n'est pas essentielle.

Les recherches de la commission royale anglaise (1) établirent que l'emploi du sérum de bœuf glycérimé à 2,5 % est le meilleur procédé pour mettre en évidence les différences de culture entre les types humain et bovin. La glycérine qui ne favorise pas la culture du bacille bovin est, au contraire, très favorable à celle du bacille humain et du bacille aviaire. Pour les auteurs anglais la différence de possibilité d'utilisation de la glycérine pour les deux types serait à l'origine de leurs différences de croissance sur les milieux glycérimés.

Mais cette conclusion, ainsi formulée, nous paraît douteuse, et DORSET (2) démontra, lui aussi, que les différences de développement des bacilles humains et bovins ne résultent pas seulement de leur aptitude à utiliser plus ou moins la glycérine.

Un gros progrès cependant fut réalisé avec l'emploi des milieux à l'œuf de poule. (3)

Les cultures de bacille tuberculeux peuvent être obtenues avec certitude à partir du matériel tuberculeux, seulement sur œuf ou sur milieu au sérum.

DORSET en 1902 se servait d'un milieu préparé avec des œufs de poule.

A.-S. et F. GRIFFITH (1907) (4), expérimentant sur un grand nombre de variétés, trouvèrent qu'un milieu à l'œuf était le plus adéquat et donnait toujours des résultats pour la production des cultures primaires, le jaune seul et le mélange jaune et blanc étant de beaucoup supérieurs au

(1) ROYAL COMMISSION ON TUBERCULOSIS. — 2d. int. report, London (Clowes and Sons) 1902, p. 23.

(2) DORSET M. — *J. Americ. Med.*, 1902, p. 555.

(3) COOPER (F.-B.) et PETROFF. — *J. Inf. Dis.*, 1928, 43, 200.

(4) GRIFFITH A. S. et F. — *Royal commission on tuberculosis*, 2d. intérim report 1907, Appendix 3, 1,

blanc seul. Les différentes modifications du milieu à l'œuf apportées par un certain nombre d'auteurs, n'établirent aucune supériorité sur l'œuf complet comme milieu de réserve et d'isolement du bacille tuberculeux à partir de tissus.

On essaya le sérum d'un certain nombre d'espèces animales.

KOCH en 1884 obtint sa première culture sur sérum de bœuf coagulé. TH. SMITH recommanda le sérum de chien. Celui du chat fut reconnu comme devant donner de très bons résultats, celui du cheval et du veau étant les moins favorables. Le sérum de bœuf fut reconnu comme supérieur.

L'ensemble des expériences établit que ce qui rend certains sérums moins utilisables semble dû à ce que certains d'entre eux ont un voile salé à la surface.

Enfin on a pu constater que le sérum gélosé remplace économiquement le sérum pur. De même la pomme de terre est recommandée, quoique différente de l'œuf, et la gélose glycinée définitivement défavorable.

Le milieu de KIRCHNER (1), moitié jaune d'œuf, moitié sérum de veau, permet également la distinction aisée des deux types.

Citons également les essais de A. ROCHAIX (2) qui, en 1917, prétendit trouver un caractère différenciel du bacille aviaire tuberculeux basé sur la liquéfaction d'un milieu solide : l'agar agar, au suc de carotte.

Sur cinq souches étudiées, on n'obtint aucune liquéfaction ; on a pu donc conclure à l'inefficacité absolue de cet essai.

(1) KIRCHNER A. — *Zeitschr f. Hyg.*, 1922, p. 447.

(2) ROCHAIX (A.). — Sur un prétendu caractère différentiel du bacille tuberculeux aviaire. *C. R. Soc. Bio.*, 1917, 570.

Milieux pour Repiquages des Cultures

Le bacille tuberculeux ayant commencé à pousser en culture, peut être ensuite prêt à être cultivé ultérieurement sur certaines variétés de milieux artificiels.

Moins satisfaisants pour les premières cultures successives, les milieux à l'œuf sont tout à fait indiqués pour la conservation des cultures ; ils sont même meilleurs que les milieux au sérum.

Pour obtenir des cultures importantes, le glucose à 2 % peut avantageusement être substitué à la glycérine.

Le saccharose et l'alcool attaquent, quoique légèrement, et ne sont pas généralement ajoutés aux milieux.

L'importance des milieux synthétiques est réelle ; une composition exacte et uniforme de ces milieux est, en effet, indispensable si l'on veut comparer les résultats des cultures ; d'autre part, les milieux synthétiques permettent seuls d'aborder, dans des conditions rigoureuses, l'étude de la biologie du bacille et de sa constitution chimique. Ces milieux ont également permis de préciser les exigences alimentaires minimum du bacille dans les cultures.

Le bacille exige des milieux synthétiques présentant un léger degré d'acidité qui, exprimé en acide phosphorique, est de 0,7 %. Le potassium paraît indispensable à la culture, contrairement à l'opinion de LOWENSTEIN et PICK, et aucun autre métal alcalin ne peut le remplacer, sauf peut-être le rubidium (SAUTON). Le magnésium semble également nécessaire. Des traces de fer auraient une action favorable, et selon FROMIN et GUILLAUMIN (1923) (1) des traces d'acétate d'ammonium augmenteraient les possibilités d'utilisation de la glycérine.

(1) FROUIN et GUILLAUMIE (Mlle). — *C. R. soc. bio.*, 1923, 1002.

L'aliment azoté que réclame le microbe paraît devoir être cherché dans l'association d'acides mono-aminés et d'acides di-aminés : le glycocolle parmi les premiers, l'arginine parmi les seconds, sont pour Armand DELILLE, MAYER, SCHOEFFER et TERROINE (1) les plus favorables. On peut employer le succinate d'ammonium, l'asparagine, la succinamide : la succinate d'ammonium, en particulier, donne de très bons résultats. Les recherches de ces auteurs ont précisé que la proportion de glycérine que l'on doit ajouter oscille entre 2,7 et 3,2 % (2)

On a essayé un grand nombre de milieux synthétiques ne contenant pas d'albumine pour des travaux analytiques et pour la préparation de la tuberculine.

Citons parmi ces milieux synthétiques dont les éléments hydrocarbonés et azotés mis à part, les éléments utiles seraient pour BESANÇON, PHILIBERT et BOUDIN le potassium et le magnésium, pour CALMETTE et MASSOL le fer :

Milieu de CALMETTE, MASSOL et BRETON :

Carbonate de sodium	1 gr.
Sulfate ferreux	0,040
Sulfate de magnésium	0,050
Phosphate de potassium	1
Chlorure de sodium	8,5
Glucose	10
Glycérine	40
Succimide	2
Eau distillée	1000

(Au lieu de succimide on peut employer 10 gr. de peptone)

(1) NATTAN LARRIER. — *Traité de microbiologie. G. Doin et Cie*, 1931, 728.

(2) EASTWOOD et GRIFFITH. — *Rep. loc. Govt. Bd. Publ.*, 1914, n° 91.

Et le milieu de SAUTON :

Asparagine	4
Glycérine	60
Acide citrique	2
Phosphate bi-potassique	0,5
Sulfate de magnésium	0,5
Citrate de fer ammoniacal	0,05

NOVY et SOULE (1) (1925) ont établi que pour avoir une croissance bactérienne exhubérante, le bacille tuberculeux humain réclamait une ample provision d'oxygène dont le maximum de pression se localisait vers 100 à 150 cc d'O₂, soit, grossièrement, 500 à 700 cc d'air ordinaire.

Le milieu de LOWENSTEIN est très couramment employé dans les laboratoires, mais plus spécialement pour les cultures de bacille obtenues en ensemençant directement à partir des organes d'animaux.

Sa composition est la suivante :

Phosphate monopotassique	1 gr.
Citrate de soude	1
Sulfate de magnésie	1
Asparagine	3
Glycérine	60
Eau distillée	q. s. p. 1000

On ajoute ensuite :

Farine de pomme de terre	6 gr.
Glycérine	12

puis 4 œufs complets, plus un jaune, ensuite 10 cc d'une solution stérile de rouge congo ou 5 cc de vert Malachite ou filtre et répartit en tubes,

(1) NOVY et SOULE. — J. Inf. Dis., 1925, 36, 168.

Pour notre part, nous avons utilisé, pour l'étude méthodique de nos différentes espèces microbiennes, les milieux liquides ou solides, glycélinés ou non, préparés suivant des données absolument strictes et classiques.

Enfin, nous avons ajouté un milieu un peu spécial d'origine animale, sans préparation préalable : le foie de veau.

Nous donnons ici la liste de ces différents milieux ainsi que leur technique exacte de préparation :

Bouillon ordinaire,
Gélose ordinaire,
Bouillon glycéliné,
Gélose glycélinée,
Sérum de bœuf coagulé,
Pomme de terre glycélinée,
Milieu de Dorset,
Milieu à l'œuf glycéliné,
Milieu au foie de veau.



CHAPITRE II

PREPARATION DES MILIEUX

1° Préparation du bouillon nutritif ordinaire

500 grammes de viande de bœuf sans graisse ni aponevroses ni tendons sont hachés finement au hache viande. On met ce hachis à macérer avec 1 litre d'eau de source dans une marmite émaillée couverte d'un linge. On laisse ainsi de 4 à 12 heures à la température du laboratoire. Ensuite, on porte lentement cette macération à l'ébullition en agitant constamment avec un agitateur en verre. On laisse bouillir pendant 10 minutes pour coaguler les matières albuminoïdes sans cesser de remuer. On laisse refroidir et on filtre alors le mélange sur un linge de toile mouillé; le liquide est recueilli dans une autre marmite. On exprime avec soin la viande cuite restée sur le linge en tordant fortement celui-ci. On filtre alors sur papier mouillé pour retenir les particules de graisse; le liquide filtré est complété à 1 litre avec de l'eau de source; ce liquide constitue la macération de viande. A cette macération on ajoute 10 grammes ou 20 grammes de peptone Chapoteaut et 5 grammes de sel de cuisine. Faire bouillir un instant en agitant pour faciliter la dissolution de la peptone. Dès que la dissolution est complète, on laisse refroidir et on alcalinise par un des procédés indiqués plus loin. On porte ensuite la marmite à l'autoclave et on chauffe à 120° pendant 20 minutes pour précipiter les phosphates alcalino-terreux. On filtre à nouveau et le bouillon doit couler clair.

Vérifier l'alcalinité. On répartit ensuite ce bouillon dans les vases de culture (ballons, tubes), que l'on bouche au coton cardé; on stérilise à 115° pendant 20 minutes (les tubes sont placés, sans trop les serrer, dans un panier métallique et on protège les cotons avec un papier fort).

Remarque importante :

La température de stérilisation terminale doit être inférieure au précédent chauffage pour éviter une nouvelle précipitation des phosphates alcalino-terreux qui trouble-
raient le bouillon.

Alcalinisation

L'alcalinisation du bouillon se fait le plus couramment avec de la soude.

a) *Préparation de la solution de soude.*

On emploie une solution de soude normale (40 grammes de soude pour 1.000 cc d'eau distillée); pratiquement cette solution est préparée en partant de la lessive de soude à 36° Baumé, que l'on dilue au dixième avec de l'eau distillée. Cette solution, ainsi préparée, correspond sensiblement à la solution normale de soude.

b) *Procédé au papier de tournesol.*

Il faut se servir de papier de tournesol sensible, rouge et bleu.

Avec une baguette de verre on porte une goutte du milieu liquide (froid ou refroidi aux environs de 60°) sur un morceau de papier de tournesol bleu, si celui-ci vire au rouge le milieu est acide. Il faut d'abord l'amener à la neutralité qui est sensiblement indiquée par une *teinte lilas* que prend le papier de tournesol rouge; pour cela, à l'aide d'une pipette, on ajoute au milieu par additions successives de petites quantités de soude normale; après chaque addition il faut bien mélanger avec l'agitateur et porter, à l'aide de celui-ci, une goutte de liquide sur le papier de tournesol bleu. La teinte rouge s'atténue progressivement

en se mélangeant de violet. On porte également une goutte du milieu sur le papier de tournesol rouge; s'il n'y a pas de modifications de teinte, on continue à ajouter de la soude par petites quantités. A un moment, le papier rouge commence à virer, il faut alors ajouter prudemment de la soude et on atteint vite la teinte lilas qui indique sensiblement la neutralité. Le point neutre obtenu, la quantité de soude à ajouter pour alcaliniser varie avec la composition du milieu et le but que l'on se propose. Pour les milieux usuels on ajoute une fois la neutralité obtenue, *7 cc de soude normale par litre de milieu.*

Détermination de l'acidité ionique

Celle-ci réclame une mise au point particulièrement précise.

La détermination du PH, par colorimétrie, est fondée sur l'appréciation de la teinte que prend l'indicateur, ajouté à la solution dont on veut déterminer la concentration en ions hydrogène. On opère par comparaison avec une échelle, constituée par une série de solutions de PH bien déterminés, rangés par progression de leurs concentrations en ions hydrogène dans des vases identiques (éprouvettes ou tubes de même diamètre intérieur et extérieur et de même qualité de verre).

Les indicateurs sont en solutions de concentrations bien déterminées également.

On opère en versant dans des tubes identiques des volumes égaux, par exemple 10 cc, de solution à PH connu. Les concentrations en ions H d'une telle série varient de l'une à l'autre de quelques centièmes à 1, 2 parfois 3 dixièmes d'unités Sorënsen. On ajoute un nombre fixe de gouttes de la solution d'un indicateur qui prend sa teinte déterminée particulière par la concentration en ions H.

On procède de même avec la solution dont on veut déterminer le PH. On agite et compare la teinte de la solution

à analyser à celles des solutions témoins.

On a recours à une série d'indicateurs virant chacun dans une zone déterminée de PH.

Il faudra préparer une gamme de solutions témoins ou solutions types présentant chacune une réaction acide plus ou moins forte, ou une réaction alcaline variable.

Elles sont composées d'acides, ou de sels à réaction acide, auxquels on ajoute une base ou un sel jouant le rôle de tampon.

Un certain nombre d'appareils, certains employant des méthodes de mesures électriques, sont utilisés couramment pour la mesure de ce PH. Nous employons pour notre part le comparateur colorimétrique de HELLIGE, précis et d'une utilisation rapide.

On détermine approximativement au papier de tournesol l'acidité ou l'alcalinité de la solution à étudier, ce qui indique les indicateurs à employer. On place la solution à étudier dans deux cuvettes carrées placées dans l'évidement à l'intérieur de la cuve de l'appareil, l'une à gauche du corps du comparateur, l'autre à droite, additionnée de la quantité de solution d'indicateur indiquée sur la boîte du colorant choisi. Un disque coloré à petites plaques que l'on fait tourner permet d'obtenir la couleur identique à celle de la solution à examiner. Les petites plaques numérotées indiquent la valeur cherchée.

Les disques de couleurs employés ont un indice d'ionisation qui varie: pour le bleu de thymol bromé de PH: 6.0 à 7.6, et pour le rouge de phénol de PH : 6.8 à 8.4, ce qui nous donne une marge de variation suffisamment large, les PH des milieux que nous employons étant généralement fixés vers PH 7.2, 7.4.

2° Préparation de la gélose nutritive ordinaire à 2 0/0

A 1 litre de macération filtrée de viande, peptonée et salée, ajouter 20 grammes de gélose coupée en petits morceaux.

Cette gélose, au préalable, a trempé pendant quelques heures dans de l'eau et on l'ajoute au milieu après l'avoir essorée dans un linge. On chauffe en remuant constamment avec un agitateur jusqu'à dissolution de la gélose, on laisse refroidir jusqu'à 60° environ et on alcalinise.

On chauffe à l'autoclave à 120° pendant 30 minutes. On vérifie l'alcalinité et on *filtre à chaud*. On répartit dans les vases de culture et on stérilise à 115° pendant 20 minutes.

3° Préparation du bouillon glycérimé

Celui-ci sera obtenu en ajoutant simplement 5 % de glycérine stérile au bouillon ordinaire.

Répartir et stériliser.

4° Préparation de la gélose glycérimée

Au bouillon de viande préparé comme précédemment, peptoné et alcalinisé, on ajoute 20 grammes de gélose par litre en menus fragments et préalablement mise à macérer dans l'eau froide. On ajoute ensuite de la glycérine à 5 %. Puis on porte à l'autoclave à 120°, 20 minutes; on clarifie au blanc d'œuf, on filtre et stérilise.

5° Préparation du sérum de bœuf coagulé

On se sert le plus souvent de sérum de bœuf recueilli à l'abattoir le plus aseptiquement possible. On répartit en

tubes avec inclinaison convenable et chauffe lentement jusqu'à 70°, température nécessaire pour que la coagulation soit complète, ou par chauffage discontinu 1 heure à 58°-60° au bain-marie cinq à six jours de suite. Eprouver à l'étude à 37° 48 heures.

6° Préparation du sérum de bœuf glycérimé

Il sera obtenu en ajoutant 5 % de glycérine au sérum de bœuf coagulé ordinaire.

7° Préparation des tubes de pommes de terre glycérimées

Les tubes employés sont dits « tubes à pommes de terre de Roux ». Ils sont étranglés sur le quart inférieur de façon à empêcher la tranche de pomme de terre de tomber dans le fond.

On choisit, de préférence, des pommes de terre à peau lisse, sans défaut, qui sont brossées, pour enlever la terre. On sectionne perpendiculairement au grand axe les deux extrémités de la pomme de terre. Le tubercule est placé sur une plaque de liège par une de ses extrémités tronquée; au centre de l'autre extrémité on enfonce l'emporte-pièce de QUEYRAT de façon à découper deux demi-cylindres dans toute la hauteur de la pomme de terre, les deux demi-cylindres ainsi découpés sont jetés dans un cristalliseur rempli d'eau (pour les pommes de terre anciennes qui sont généralement très acides, elles sont immergées dans une solution de bicarbonate de soude à 10/1000, où elles séjournent pendant deux heures).

Chaque fragment, au sortir du liquide (eau simple ou eau bicarbonatée) est essoré sur un linge ou entre deux feuilles de papier buvard puis est introduit dans un tube de Roux,

Les pommes de terre glycélinées sont immergées pendant 48 heures dans de l'eau glycélinée à 5 %. Avant d'introduire la pomme de terre dans les tubes on remplit avec la même eau glycélinée ou avec du bouillon glycéliné à 5 % les tubes de Roux jusqu'à 1 centimètre environ de l'étranglement; on les garnit de leur fragment de pomme de terre, on les stérilise et on incline les tubes comme il est dit précédemment. Le lendemain ils sont capuchonnés.

8° Préparation du milieu de Dorset (à l'œuf simple) (1)

On lave des œufs de poule à l'eau bouillie. On les brosse et on les immerge quelques minutes dans une solution phéniquée à 5 %. On les saisit entre deux feuillets de papier buvard stérile. On flambe les deux pôles et, avec une pince pointue flambée, on pratique une ouverture à chacun de ces pôles. Au moyen d'un tube de caoutchouc stérile portant un filtre à coton stérilisé, on souffle par l'ouverture supérieure pour que le contenu de l'œuf tombe de l'ouverture inférieure dans un matras d'ERLENMEYER préalablement stérilisé et taré.

On introduit : eau stérile 10 % du poids d'œuf et on agite sans faire de bulles d'air. On jette sur un entonnoir portant une tarlatane stérile (sous un couvercle en papier buvard stérile) et on répartit aseptiquement la masse filtrée dans des tubes à essai. On coagule à 70°, deux heures en position inclinée, et on porte trois jours à 37° pour rejeter ceux qui seraient contaminés. On capuchonne.

9° Préparation du milieu à l'œuf glycéliné

Il se prépare comme le milieu de DORSET, en lui adjoi-

(1) CALMETTE A., BOQUET A. et NÈGRE L. — Manuel technique de microbiologie et sérologie. Masson et Cie. 1933, 525.

gnant, avec toutes les précautions d'asepsie recommandées, 5 % de glycérine stérile.

La préparation de ces deux milieux à l'œuf réclame une minutie toute particulière, l'introduction de germes étrangers rendant les milieux inutilisables. Il sera donc indispensable de les éprouver 48 heures à l'étuve à 37°.

10° Préparation du milieu au foie de veau

On utilise un foie de veau sain et frais que l'on coupe en tranches analogues aux fragments de pomme de terre utilisés pour la culture du bacille de Kock. Ces tranches devront offrir une surface assez plane et sans vaisseaux pour faciliter l'ensemencement.

On stérilise 20 minutes à 120°.

CHAPITRE III

ORIGINE DES SOUCHES

Nos observations concernant les caractères de culture ont porté sur quatre souches parfaitement connues et d'un type bien défini ; elles ont été suivies quotidiennement depuis le jour de l'ensemencement et pendant une durée de six mois.

Ces souches : humaine

bovine

aviaire

paratuberculeuse,

ont les caractéristiques suivantes :

La souche humaine que nous devons à l'obligeance de M. SAENZ, de l'Institut Pasteur, a été isolée des crachats d'un malade, Rou..., atteint de tuberculose pulmonaire cavitairc, du service du docteur AMEUILLE, à l'hôpital Cochin.

La souche bovine, que nous devons également à l'obligeance de M. SAENZ, provient de la clinique humaine ; il s'agit d'un malade, Mau..., boucher aux abattoirs de Vaugirard, qui s'était blessé au cours de son travail avec un os. A la suite de cette blessure, il fit une synovite tuberculeuse. Les fongosités extraites au cours d'une intervention chirurgicale tuberculinisèrent le cobaye à partir duquel on isola la souche en question (1).

La souche poule 17 a été isolée par nous d'une poule tuberculeuse saisie aux Halles de Paris, et présentant à l'autopsie les lésions classiques de tuberculose naturelle

de la poule : gros tubercules hépatiques, rate hypertrophiée avec nombreuses granulations jaunâtres, très nombreux ganglions tuberculeux répartis tout le long de l'intestin.

Quant à la souche *paratuberculeuse*, dite « Pellegrini », elle fait partie de la collection de l'Institut Pasteur.

(1) SAENZ A. et MOREL D. — Etude étiologique et bactériologique de deux cas de synovite tuberculeuse à bacille bovin. *C. R. Soc. bio.* 1938, 1418.

CHAPITRE IV

ETUDE DETAILLEE DE CHAQUE SOUCHE SUR LES DIFFERENTS MILIEUX

ENSEMENCEMENT. — Pour chaque souche faisant l'objet de cette étude nous avons pratiqué des cultures, d'une part par ensemencement massif comportant un prélèvement fait à la spatule, d'autre part par ensemencement plus discret fait en partant d'une gouttelette de culture émulsionnée en eau physiologique.

Souche humaine

Sur *gélose-ordinaire* nous n'obtenons de culture avec aucun des deux ensemencements, après sept semaines et plus à l'étuve à 37°.

La forme de vieillissement, contrôlée après 105 jours environ, présente des traces peu abondantes, blanchâtres, nettement desséchées, les colonies ayant commencé à se développer pauvrement vers le deuxième mois.

Sur *bouillon ordinaire*, pas de culture également après sept semaines et plus. L'aspect du bouillon reste invariable après quatre mois de séjour à l'étuve à 37°.

Le *sérum de bœuf coagulé* présente quelques colonies, nettement différenciées le vingt-cinquième jour. Après sept semaines à 37°, l'ensemencement direct donne des colonies maigres, confluentes, expansives, jaunes grises, à surface finement granuleuse.

Le vieillissement donne quelques colonies, blanches, grises, desséchées, vers le quatrième mois.

Favorisées par la présence de glycérine, les colonies sur *sérum de bœuf coagulé glyciné* présentent un léger relief vers le treizième jour. Après sept semaines elles deviennent plus luxuriantes, plus épaisses, saillantes, jaune clair, avec une surface grossièrement granuleuse et entassées par plaques irrégulières.

Le vieillissement donne des colonies très abondantes, humides, formant un gros dépôt dans le fond du tube.

Le milieu de Dorset, moins électif que les milieux glycinés, nous permet de voir les colonies apparaître le quatorzième jour par ensemencement direct, et assez vite par l'émulsion diluée le vingt-quatrième jour.

Après quatre semaines à l'étuve, on obtient des colonies assez pauvres, discrètes ou confluentes, très légèrement saillantes, jaune grisâtre, avec une surface finement granuleuse.

Le vieillissement laisse voir des colonies plus nombreuses, blanches, sèches, en relief avec dépôt granuleux sec, surtout dans l'ensemencement direct.

Sur *milieu à l'œuf glyciné* elles poussent vers le seizième jour, présentant après quatre semaines à 37° un aspect un peu plus luxuriant que sur milieu de DORSET (dû à la présence de glycérine), jaune grisâtre, à surface grossièrement granuleuse. Les cultures, irrégulièrement nodulaires, sont accumulées par places, localisées dans le bas du tube.

Par vieillissement, on obtient des colonies desséchées, blanchâtres.

La gélose glycinée à 5 % commence à pousser le septième jour, et par dilution dès le neuvième jour. Après quatre semaines à 37° les colonies abondantes, quelquefois luxuriantes, généralement confluentes et saillantes, blanc crémeux, ont un aspect nodulaire, entassées par plaques irrégulières.

Le vieillissement donne quelques rares colonies desséchées dans l'ensemencement direct.

La *pomme de terre glycéinée* à 5 % est un excellent milieu ; les colonies poussent vite et se conservent longtemps. Elles apparaissent dès le cinquième jour. Ce sont des cultures luxuriantes, saillantes, confluentes, de couleur crème, d'aspect très sec et grisâtre caractéristique ; la surface est verruqueuse, cérébroïde, surtout localisée dans le bas du tube.

Par vieillissement après 100 jours et plus, les colonies sont toujours abondantes, cérébroïdes, très sèches, jaunes grises. L'eau de condensation présente de longues peaux membraneuses jaunes.

Le *bouillon glycéiné* à 5 % laisse rapidement apparaître de menus flocons qui, après huit semaines à 47°, donnent un voile épais, blanc ou crème, ridé, assez terne, grim pant le long des parois du ballon. Le bouillon ne présente pas de trouble, mais un dépôt léger, granuleux ou écailleux vers le fond.

Le vieillissement montre un voile rompu, un trouble imprécis, et surtout un dépôt inerte au fond du ballon.

Enfin, le *milieu au foie de veau*, dont l'ensemencement réclame un dépôt assez abondant de matériel tuberculeux, laisse voir le douzième jour quelques rares colonies blanches, rondes, pauvres, en tête d'épingle au point exact de l'ensemencement.

Après quatre semaines à 37° elles restent dans un état stationnaire, sans prolifération ni desséchement, et toujours exactement localisées dans les zonesensemencées.

Elles sont caractérisées par leur aspect blanc, rond et peu diffluent, assez lisse.

Cette étude détaillée des différents milieux établit péremptoirement l'action nettement favorisante de la glycérine.

Souche Bovine

D'une façon générale, avec cette souche, la croissance est discrète et pauvre.

La *gélose ordinaire* ne laisse rien pousser, même après sept semaines à l'étuve à 37°.

Le *bouillon ordinaire* ne présente pas non plus de culture. On note seulement, après sept semaines à 37°, un très léger dépôt granuleux au fond.

Le *sérum de bœuf coagulé* donne de légères colonies vers le dixième jour ; l'émulsion diluée ne donne rien après quatre semaines à 37°.

Après sept semaines à 37° on obtient des colonies assez semblables au type humain, mais très pauvres, c'est-à-dire maigres, expansives, confluentes, à surface finement granuleuse.

Le vieillissement présente parfois quelques colonies rondes, desséchées.

Le *sérum de bœuf coagulé glycérimé* laisse apparaître de rares cultures vers le onzième jour environ. Après sept semaines à 37° on obtient des colonies irrégulières, pauvres, assez semblables à celles que l'on obtient sur sérum de bœuf simple.

Il reste par vieillissement quelques colonies rondes, desséchées et diffuses.

Sur *milieu de Dorset* des colonies apparaissent très discrètement vers le quatrième jour, par émulsion diluée seulement vers le douzième jour.

Après quatre semaines à 37° on obtient des cultures assez pauvres, grisâtres, à surface gris-jaunâtre, finement granuleuses. L'aspect général ressemble au type humain, en étant cependant plus pauvre.

En vieillissant les colonies sont plus nombreuses, mais discrètes, très disséminées et humides.

Sur milieu à l'*œuf glycérimé* on obtient des colonies

assez semblables, irrégulièrement nodulaires et accumulées par places, commençant à pousser très vite vers le cinquième jour.

Elles vieillissent comme sur le milieu de DORSET.

La *gélose glycinée* à 5 % ne donne pas non plus de colonies riches, mais commence à pousser nettement le vingt-quatrième jour, donnant après quatre semaines à 37° des colonies discrètes, en couche mince, diffuses, localisées surtout dans le bas du tube.

Par le vieillissement elles donnent de très rares colonies desséchées.

La *pomme de terre glycinée* à 5 % donne des colonies longues à apparaître, très discrètes vers le quarante-sixième jour. Après sept semaines à 37° on obtient des colonies pauvres, discrètes ou confluentes, diffuses, grisâtres.

Après plus de quatre mois les colonies sont très pauvres, diffuses et desséchées.

Sur *bouillon glyciné* à 5 % on obtient une culture nette par ensemencement direct, sans voile, le dixième jour. Après sept semaines à 37° le bouillon se présente sans trouble, avec en surface un voile mince, grisâtre, irrégulièrement nodulaire. On trouve un dépôt léger au fond du tube, finement granuleux.

Le milieu *au foie de veau* comportant un ensemencement par dépôt assez abondant de matériel, présente quelques rares colonies blanches correspondant à l'ensemencement, très pauvres et nettement localisées.

Après quatre semaines à 37°, les colonies sont toujours aussi rares. Après trente-trois jours elles ont tendance à jaunir, les premiers signes du vieillissement paraissant atteints.

Souche Aviaire

De même que pour la souche humaine, la souche aviai-

re se caractérise par une luxuriance remarquable sur les milieux additionnés de glycérine et par un aspect gras, crémeux, blanchâtre, tout à fait spécifique, et que nous retrouverons fidèlement sur presque tous les milieux étudiés.

La *géluse ordinaire* sur laquelle les colonies apparaissent le treizième jour, donne, après sept semaines à 37°, des colonies partiellement confluentes, peu riches, d'un aspect gras crémeux, tout à fait caractéristique de la souche aviaire, translucides, vitreuses, avec une surface finement granuleuse.

Le vieillissement laisse voir des colonies nombreuses, blanches, desséchées d'une façon particulière en longs filaments.

Sur *bouillon ordinaire* l'ensemencement direct donne des flocons nettement définis dès le dixième jour, qui laissent finalement, après quatre semaines à 37°, un bouillon sans trouble ni voile, laissant voir un léger dépôt visqueux au fond du ballon, membrano-granuleux même et qui se désagrége par agitation.

Après trois à quatre mois à l'étuve il ne présente toujours pas de trouble, le dépôt granulo-membraneux restant léger.

Sur *sérum de bœuf coagulé* des colonies apparaissent, maigres, discrètes, le dixième jour, et par dilution seulement le trentième jour.

Les colonies, après quatre semaines à 37°, ressemblent assez à celles du type humain : maigres, grises, à surface finement granuleuse, localisées vers le bas du tube. Elles deviennent, en vieillissant, assez nombreuses, pas très abondantes, crémeuses et humides, plus sèches sur l'ensemencement direct.

Le *sérum de bœuf coagulé glycérimé* (par suite de la présence de la glycérine) donne des cultures bien plus abondantes qui apparaissent le cinquième jour, peu nettes en émulsion diluée vers le douzième jour. Après quatre

semaines à l'étuve à 37°, on obtient des colonies luxuriantes, saillantes, jaunes ou jaune d'or, avec une surface très lisse, crèmeuse.

L'ensemencement direct en vieillissant donne des colonies blanches, humides, étalées en une couche seule, la dilution donnant des taches séparées, épaisses, blanc-crèmeux, humides.

Sur *milieu de Dorset* la culture est assez semblable à celle du type humain, la surface étant plus lisse et moins granuleuse.

Dé très rares colonies apparaissent dès le quatrième jour. Après quatre semaines à 47° on obtient des colonies pauvres, discrètes, confluentes, d'aspect crèmeux, blanc, plus pauvres que sur œuf glycérimé.

Au bout de quelques mois les colonies sont abondantes par places, régulièrement disposées, rondes, sèches, jaunes, assez discrètes.

Le milieu à l'*œuf glycérimé* est généralement plus luxuriant que le type humain, mais assez semblable cependant. L'ensemencement direct laisse voir des colonies le douzième jour. Un autre ensemencement nous avait permis d'obtenir dès le quatrième jour, en partant d'une émulsion peu diluée, une grosse colonie encore peu développée la quatrième semaine.

Après quatre semaines à 37°, nous avons donc obtenu des colonies luxuriantes, saillantes, jaune crèmeux, légèrement rosé, avec une surface lisse.

La culture souvent ressemble à de la crème; elle vieillit en formant des colonies blanchâtres desséchées.

La *gélose glycérimée* à 5 % ressemble aussi souvent au type humain. De très rares colonies apparaissent à la base du tube vers le treizième jour, qui donnent, après quatre semaines à 37°, des cultures plus luxuriantes que le type humain, irrégulièrement réparties, à relief profond, blanc, d'aspect crèmeux, cérébroïde, la surface paraissant peinte.

Elle vieillit en présentant des colonies plus sèches, épaisses par places.

La pomme de terre glycerinée à 5 % ainsi que pour la souche humaine est un milieu très électif, les colonies ressemblant fréquemment aux colonies humaines, mais profuses, confluentes, paraissant peintes. La surface est légèrement nodulaire.

Elles apparaissent blanchâtres, longitudinales, luisantes dès le troisième jour.

Le vieillissement se manifeste par de très abondants amas cérébroïdes. Les colonies sont desséchées, mais denses et agglomérées en jaune cireux.

Elles persistent dans cet aspect plus de cinq mois et demi après l'ensemencement.

Sur le bouillon glyceriné à 5 % apparaissent de légers nuages au fond du ballon le troisième jour, et un léger commencement de voile le quatrième jour.

Un dépôt finement granuleux s'accumule dans le fond du ballon, simulant petit à petit des colonnettes entrelacées, grimpant le long des parois du flacon, ramifiées nettement, et semblables à des intestins vers la huitième semaine d'étude à 37°. On n'obtient pas de trouble ni de voile en surface. Le dépôt du fond, collant et abondant, apparaît visqueux par agitation.

Rarement, mais parfois, on obtient des traces de voile.

Les cultures vieillissantes s'accumulent en un voile profond au fond du ballon. Les colonnes demeurent sur les parois.

On voit donc que cette souche présente un ensemble de caractères intéressants, particulièrement sur milieux glycerinés, à l'œuf et sur pomme de terre, qui permettront une différenciation, nette et assez poussée.

Souche paratuberculeuse

Cette souche est caractérisée par la très grande rapidité

de croissance de ses cultures qui, même en émulsion très diluée, donnent, en un nombre d'heures relativement restreint, des colonies extrêmement abondantes.

Nous avons suivi le même plan d'étude que pour les autres souches, en pratiquant deux ensemencements, l'un direct en partant de la souche d'origine, le 20-1-38, l'autre en partant d'une émulsion en eau stérile, le 1-2-38.

Remarquons aussi la pigmentation très particulière de cette souche, variant de l'ocre jaune clair à l'ocre intense presque brun.

Alors même que dans les premiers jours cette pigmentation peut n'apparaître que très pâle, elle fonce rapidement et rejoint l'intensité de pigmentation caractéristique.

D'une façon générale le vieillissement se marque par une tendance régulière à se dessécher, constante pour l'ensemble des souches, avec relief diminué, pigmentation toujours très soutenue, sauf pour quelques exceptions.

Sur *gélose ordinaire* l'ensemencement direct donne des colonies qui commencent le premier jour et poussent nettement sous forme de nombreuses petites colonies le deuxième jour ; la dilution donne des colonies qui poussent bien le troisième jour.

Après sept jours à 37°, on obtient une culture abondante, confluyente, à surface lisse, légèrement en relief, granuleuse par places, et pigmentée irrégulièrement en jaune pâle et ocre.

Le vieillissement s'affirme par affaiblissement du pigment en jaune ocré.

Sur *bouillon ordinaire* les colonies poussent le deuxième jour. Même avec l'émulsion diluée, le voile apparaît le deuxième jour également. Après sept jours à 37°, on obtient un bouillon sans trouble, à voile mince, sec, écailleux, pigmenté richement. Dépôt granuleux, visqueux dans le fond, grimpant le long des parois et désagrégé par agitation,

En vieillissant la désagrégation s'accroît, le voile se rompt par places, la couleur générale restant pigmentée intensément en brun foncé.

Sur *sérum de bœuf coagulé*, les colonies commencent à pousser le deuxième jour, nettement et abondamment le troisième jour. Après trente-sept jours à 37° nous obtenons des cultures abondantes, saillantes, confluentes le premier jour, pigmentées légèrement vers le quatrième ou cinquième jour d'un pigment ocre.

Après sept jours à 37°, la culture est abondante, saillante, confluyente, irrégulièrement entassée, d'abord jaune ocre, à surface nodulaire.

En vieillissant elle reste sensiblement la même.

Sur *sérum de bœuf coagulé glyciné*, l'ensemencement direct pousse bien le deuxième jour, la dilution commence à pousser le troisième jour, au début sans pigment foncé, puis celui-ci devient ocre rouge brique.

Après sept jours à 37°, on obtient des colonies très semblables à celles du sérum simple, mais encore plus abondantes.

L'intensité du pigment ne s'altère pas en vieillissant.

Sur *milieu de Dorset*, l'ensemencement direct donne des colonies qui poussent abondamment le troisième jour. Après sept jours à 37°, on obtient des cultures abondantes, confluentes, pigmentées, avec une surface terne, finement granuleuse ; elles sont souvent irrégulièrement amassées.

Le vieillissement ne provoque pas de changements apparents.

Sur *milieu à l'œuf glyciné* l'ensemencement donne des colonies épaisses dès le deuxième jour, sur la dilution le troisième jour. Après sept jours à 37°, on a des colonies luxuriantes, saillantes, sèches, de couleur brique, avec une surface grossièrement granuleuse ressemblant à des miettes de pain.

L'aspect est le même après quelques mois.

Sur *gélose glycinée* l'ensemencement direct donne

des colonies qui poussent le deuxième jour et qui sont épaisses le quatrième jour ; la dilution commence à pousser le septième jour.

Après sept jours à 37°, on obtient des colonies semblables à la culture sur œuf glycérimé avec un pigment aussi soutenu.

En vieillissant le pigment demeure très soutenu, d'un ocre intense allant au rouge brique.

La *pomme de terre glycérimée* est pour la souche paratuberculeuse, elle aussi, un excellent milieu, à la fois de développement rapide et de conservation.

Les colonies poussent bien dès le deuxième jour, et avec la dilution le quatrième jour. Après sept jours à 37°, les cultures sont abondantes, saillantes, confluentes, pigmentées en ocre intense. La surface est finement granuleuse, ressemblant à des miettes de pain.

Le vieillissement intensifie la couleur du pigment qui passe de l'ocre foncé nettement au rouge brique.

Les cultures se conservent aussi belles et luxuriantes.

Sur *bouillon glycérimé* on aperçoit dès le second jour après l'ensemencement de légers flocons au fond du ballon.

La dilution donne de très rares flocons vers le dixième jour. Après quatorze jours à 37°, le bouillon présente un voile épais à surface grossièrement granuleuse, en miettes de pain sèches. La pigmentation est blanc jaunâtre. Le voile grimpe partiellement le long des parois du vase. On ne constate pas de trouble, mais un dépôt de granules grossiers dans le fond.

Ce dépôt devient considérable au bout de quelques mois, le voile se rompt en fragments, le trouble provoqué par des agitations successives persiste en partie, la présence du pigment donne une teinte générale brun foncé.

Enfin, le *milieu au foie de veau* laisse voir des colonies diffluentes, ocrées, en relief sur l'épaisseur des ensemencements assez riches. Elles deviennent très vite épaies-

ses et abondantes, ne formant plus qu'une nappe épaisse en relief, pigmentée en ocre mat. Dans l'eau de condensation et derrière la tranche de foie, on peut remarquer l'envahissement de tout le milieu.

Ce milieu conserve longtemps les colonies dans le même état.

Cette souche remarquable à la fois par la très grande rapidité et l'abondance de ses cultures, et par l'intensité très spécifique de sa pigmentation, ne se modifiant sensiblement pas en vieillissant, sauf une légère tendance à se dessécher, présente donc un ensemble de caractères tels qu'elle ne peut être confondue avec aucune autre.

CHAPITRE V

DUREE DE VIE

La longueur de vie d'une culture varie avec le milieu, la souche et la luxuriance des colonies. Certaines colonies ont une vitalité plus longue sur milieu à l'œuf que sur sérum ou d'autres milieux.

Il est établi généralement que les souches aviaires vivent plus que les souches bovines et les souches bovines plus que celles du type humain.

F. GRIFFITH (1911), concluant sur un grand nombre de comparaisons, a trouvé de petites différences entre les différents types.

La plus vieille, encore capable de pousser, avait 1.067 jours (température de la pièce). C'était une souche de bacille aviaire. Une souche bovine vécut 990 jours à 37°5 et une souche humaine 936 jours à la température de la pièce.

A. S. GRIFFITH (1) trouva un bacille aviaire encore vivant après 3 ans et conserva un bacille humain vieux de deux ans 1/4, les deux gardés à 37°5. Cependant, des cultures de ces différents types moururent entre 90 et 180 jours.

Des cultures primaires peuvent vivre, surtout quand elles sont discrètes, aussi longtemps que des ensemencements, probablement parce que les constituants essentiels du milieu sont utilisés moins vite.

(1) GRIFFITH A.-S. — A system. of bacteriology in relation to medecin. London (*Medical Research Council*) 1930.

Les résultats prouvent que, pour garder vivante, le maximum de temps, une culture, on doit utiliser le milieu à l'œuf qui donne surtout des colonies discrètes.

CHAPITRE VI

TABLEAU COMPARATIF SUCCINCT DES CARACTERES LES PLUS TYPIQUES

Sur *gélose ordinaire* le bacille aviaire seul pousse, mais pauvrement. Le paratuberculeux pousse abondamment, nettement pigmenté.

Sur *bouillon ordinaire* le bacille aviaire seul donne une culture en surface, sans trouble. Le paratuberculeux donne un voile abondant, pigmenté.

Sur *sérum de bœuf coagulé*, les bacilles humain, bovin et aviaire donnent des cultures maigres. Le paratuberculeux seul pousse abondamment, pigmenté en ocre.

Sur *sérum de bœuf coagulé glycérimé* les bacilles humain et aviaire poussent en cultures luxuriantes, le bacille bovin restant maigre, non influencé par la présence de glycérine. Le paratuberculeux pousse bien.

Sur *milieu de Dorset* les cultures sont assez pauvres, le bacille bovin plus que le bacille humain, le bacille aviaire étant abondant, crémeux ; le paratuberculeux est toujours abondant.

Sur *milieu à l'œuf glycérimé*, les bacilles humain et aviaire sont beaucoup plus abondants que le bacille bovin qui reste discret. Le paratuberculeux est riche et pigmenté.

Sur *gélose glycérimée* les bacilles aviaire et humain sont luxuriants, le bacille bovin restant pauvre. Le paratuberculeux est toujours saillant.

Sur *pomme de terre glycérimée*, luxuriantes et profuses

pour les bacilles humain et aviaire, les colonies du bacille bovin restent diffuses, minces et grisâtres. Le paratuberculeux est exubérant.

Enfin sur *bouillon glycérimé*, la culture se présente en un voile épais pour le bacille humain et aviaire, le voile du bacille bovin restant mince. Le paratuberculeux présente un voile épais.

On voit donc que la seule présence de glycérine oppose nettement la croissance abondante des types humain et aviaire à la pauvreté du type bovin, non favorisé par elle.

Le tableau détaillé suivant donne, d'une façon précise, sur chaque milieu, pour chaque souche, les résultats de nos expériences personnelles.

Ces travaux confirment en tous points les résultats, qui font autorité en la matière, acquis en Angleterre par M. A. Stanley GRIFFITH.

4 semaines à 37°

(Prélèvement direct sur souche)

MILIEUX	HUMAIN	BOVIN	AVIAIRE	PARATUBERCULEUX Au bout du 7 ^e jour
Célose ordinaire 37°	Pas de culture.	Pas de culture.	Partiellement confluent; peu riche. Aspect gras, crémieux, blanchâtre.	Abondante, confluente, lisse, granuleuse; pigment jaune faible.
Bouillon ordinaire 37°	Pas de culture.	Pas de culture.	Pas de trouble ni voile; léger dépôt membrano-granuleux, visqueux, désagrégé.	Voile mince, pigmenté. Dépôt abondant, gra- nuleux, grimpant le long des parois, désa- grégé par agitation.
Sérum boeuf coagulé 37°	Maigre, confluent, expansive, grise; surface granuleuse.	Comme le type humain, mais très pauvre.	Maigre, grise; surface finement granuleuse.	Abondante, saillante, irrégulièrement entassée; surface nodulaire.

31. Œuf glycériné 37°	Confluente, jaune grisâtre; surface grossièrement granuleuse; culture nodulaire irrégulière.	amassée, surface lisse. Colonies très discrètes. Comme le type hu- main sur milieu de Dorset.	aspect crêmeux, et blanc. Colonies assez abon- dantes; surface jau- nâtre (parfois comme type humain); aspect très crêmeux, lisse à la surface.	irrégulière; surface lisse. Luxuriant, sèche, pigment foncé ocre (aspect en miettes de pain); surface granuleuse, irrégulière.
Gélose glycérinée 5 % 37°	Peu abondante, pauvre; surface très finement granuleuse.	Pauvre; colonies discrètes en couches minces, confluente, diffuses.	Luxuriant, mais irré- gulièrement répartie; relief profond blanc; aspect crêmeux; cérébroïde; paraissant peinte.	Luxuriant, saillant, très sèche; pigment ocre intense; grains très fins et serrés.
Pomme de terre glycérinée 5 % 37°	Luxuriant, faible relief, aspect très sec et grisâtre, cérébroïde.	Pauvre, discrète et diffuse, grisâtre.	Profuse, confluent, très riche et grisâtre; surface nodulaire.	Abondante, saillante, très pigmentée, gros- sièrement granuleuse (aspect en miettes de pain sec).
Bouillon glycériné 5 % 37°	Pas de trouble; voile : éléments épais grisâtres accolés. Dépôt granuleux ou cailloux au fond.	Pas de trouble; surface grisâtre irrégulièrement nodulaire; Dépôt léger finement granuleux.	Quelques rares traces de voile sur le fond; dépôt granuleux, abondant et collant le long des parois en colonnes entrelacées; visqueux, désagréé par agitation.	Voile épais à surface granuleuse; pigment jaune ocre; dépôt très abondant, granu- leux, grimpant le long des parois; pas de trouble; dépôt de granules grossiers.

CONCLUSIONS

Les bacilles tuberculeux humain, bovin, aviaire et les bacilles saprophytes alcoolico et acido-résistants présentent des caractères de cultures distinctifs, précis, sur des milieux bien choisis.

Ce sont les bacilles saprophytes alcoolico-résistants qui donnent les cultures les plus rapides, les plus riches ; ces germes se développent même sur des milieux pauvres, sans difficulté.

Après eux c'est le bacille tuberculeux du type aviaire qui se développe le plus facilement sur les milieux de culture usuels (bouillon, gélose). Cependant il s'accommode mieux des milieux glycinés et des milieux à l'œuf, sur lesquels la culture très riche se développe rapidement.

Le bacille tuberculeux humain et le bacille du type bovin se comportent de façon semblable sur les milieux ordinaires et les milieux à l'œuf.

Mais si l'on ajoute de la glycérine à ces milieux de culture, on met facilement en évidence la propriété qu'a le bacille tuberculeux humain de s'y multiplier plus activement que le bacille bovin.

Ces comportements des différentes espèces de bacilles tuberculeux et alcoolico et alcoolico-résistants sur les milieux, et l'aspect microscopique des cultures, sont assez tranchés pour permettre de les classer par ces seuls caractères biologiques.

Cependant l'identification rigoureuse de la variété de bacille tuberculeux, exige la recherche des caractères pathogènes par l'inoculation expérimentale aux principaux animaux de laboratoire (poules, lapins, cobayes).

Vu, bon à imprimer :
Le Président de la Thèse,
A. GORIS

Vu :
Le Doyen de la Faculté
Paul GUERIN

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris
G. ROUSSY

BIBLIOGRAPHIE

- ALVAREZ et TAVEL. — Recherches sur le bacille de Lustgarten. *Archives de physiologie normale et pathologique*, 1885, 303.
- ARLOING et DUFOUR. — Transmission du virus tuberculeux par voie transplacentaire chez la femelle de cobaye tuberculisée avec un filtrat de produits tuberculeux humains. *C. R. Acad. Sc.*, 1925, 826.
- BANG (O.). — Geflugel Tuberkulose und Saugetiertuberkulose. *Centralbl. f. Baktr.*, 1907, 34.
- Das Geflugeltuberculin als diagnostisches Mittel bei der chronischen pseudotuberkulösen Darmen-zuchung des Rindes. (Johnes disease.) *Centralbl. f. Baktr.*, 1908, 48.
- BONNET (H.), THIEFFRY et Mlle MONTÉFIORE. — Présence du bacille tuberculeux de type aviaire dans un ganglion de lymphogranulomatose maligne. *C. R. Soc. Bio.*, 18 juin 1938.
- CALMETTE. — L'infection bacillaire et la tuberculose chez l'homme et les animaux. *Masson*, 1928, 343.
- CALMETTE (A), BOQUET (A). et NÈGRE (L.). — Manuel technique de microbiologie et sérologie. *Masson et Cie*, 1933, 525.
- CHAUVEAU (dans CALMETTE. — L'infection bacillaire et la tuberculose chez l'homme et les animaux. *Masson*, 1928.)
- COOPER (F.-B.) et PETROFFS (A.). — *J. Infect. Dis.*, 1928, 43, 200.
- DEBRÉ, BOQUET, SAENZ et LELONG (M.). — Bacilles tuberculeux aviaires dans l'organisme d'un enfant. *Soc. méd. hop. Paris*, 8 février 1935, 22.
- EASTWOOD (A.) et GRIFFITH (F.). — *Rep. loc. Govt. Bd. Publ.*, 1914, 91.
- FRASER. — *Journ. of Experiment. med.*, 1912, 16, 432.
- FROUIN (A.) et GUILLAUMIE (Mlle). — Utilisation des sucres : lactose, maltose, saccharose, tréhalose par le bacille tuberculeux. *C. R. Soc. Bio.*, 1923, 1002.

- GRIFFITH (A.-S.). — A system. of bacteriology in relation to medicin. (*Medical research council*), London, 1930, 150, 168.
- *Royal commission on tuberculosis*, 1907.
- *Royal commission on tuberculosis*, 1911.
- GRIFFITH (A.-S.) et F. — *Royal commission on tuberculosis*, 2d interm. report 1907, Appendix 3, 1.
- JOANNOVIC. — Tuberkulose des Menschen, hervorgerufen durch eben Erreger der Vogeltuberkulose. (*Bacillus tuberculosis avium*.) *Wien. med. Woch*, janvier 1923, 83.
- KOCH (M.) et RABINOVITSCH (L.). — Die Tuberkulose der Vogel und ihre Beziehungen zur Säugetiertuberkulose. *Virchow's Archiv*, t. CXC, 246.
- KOCH (R.). — Uebertragbarkeit der Rindertuberkulose auf den Menschen. *Deutsche med Wochenschr*. Leipzig, 1902, t. XXVIII, 857, 862.
- *Ou Trans. Brit. Cong. on Tub*. Londres (Clowes and sons.), N° 1, 1902, 23.
- Die Aetiologie und die Bekämpfung der Tuberkulose.
- Congrès int. de médecine de Berlin, 4 août 1890. (Citation.)
- KRUSE. — Ueber das Vorkommen der Huhnertuberkulose beim Menschen und bei Säugetieren (dans *Nattan-Larrier. Traité de Microbiologie. Doin et Cie*, 1931, 899.
- LANGLOIS. — Le bacille tuberculeux aviaire chez le cheval, le bœuf et le porc. (Ecole vétérinaire d'Alfort), Thèse Paris, 1928.
- LAPORTE (R.). — Etude microbiologique du bacille tuberculeux du type bovin. *Ann. Inst. Pasteur*, octobre 1936, 400.
- L'ESPÉRANCE. — Pel' Ebstein's syndrome of tuberculous origin. *Jour. Imm.*, 1930, 18, 133, 139.
- MAFFUCCI. — La tubercolosi bivina sotto il rapporto industriale igienico. *Riforma Medica*, Mai 1890.
- NATTAN-LARRIER. — Traité de microbiologie. *Doin et Cie*, 1931, 728.
- NOCARD et ROUX. — Sur la nature du bacille de la tuberculose. *Ann. Inst. Pasteur*, 1887, 19.
- NOVY (M.-G.) et SOULE (M.-G.). — *J. Inf. Dis.*, 1925, 36, 168. 1925.
- OPHULS (W.). — Some remarks on the mode of infection and of dissemination of tuberculosis in man, based on anatomical investigation. *Journ. of Med. Research*, N° 11, 1904, 439.

- PANSINI. — Alcuni casi di tubercolosi aviaria nelle'uomo e nei mamiferi (dans Nattan-Larrier, *Traité de microbiologie*, 1931, 368).
- PHISALIX (Mme). — *Bulletin du Muséum d'histoire naturelle*, 1903, 368.
- RABINOWITSCH (L.). — Das Tuberculin und die Fruhdiagnose der Tuberkulose. *Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt*, 1904.
- Ueber spontane Affentuberkulose ein Betrag zur Tuberkulosefrage. *Virchow's*, 19 *Archiv.*, 1907, 196.
- RIEGLER (P.). — La tuberculose chez la corneille. *Arch. veterinaria*, N° 3, 1912.
- RIVOLTA. — *Giornale d'Anatom. e. Fisio.*, 1889.
- ROCHAIX (A.). — Sur un prétendu caractère différentiel du bacille tuberculeux aviaire. *C. R. Soc. Bio.*, 1917, 570.
- ROTH (L.). — Tuberculose humaine et tuberculose des volailles. Relation. *Thèse de médecine*, 1931.
- SMITH THEOBALD. — The relation between bovine and human tuberculosis. *Tr. A. Am. Phy.*, II, 1896, 75. *J. Exper. Med.*, 1898, 470.
- SAENZ et SAYÉ. — *Bull. Un. Intern. contre la tuberculose*, II, 1934, 31.
- SAENZ et MOREL (D.). — Etude étiologique et bactériologique de deux cas de synovite tuberculeuse à bacille bovin. *C. R. Soc. Bio.*, 1938, 1418.
- STRAUS et GAMELEIA. — Recherches expérimentales sur la tuberculose. La tuberculose humaine, sa distinction de la tuberculose des oiseaux. *Archives de médecine expérimentale*, 1891, 31, 457.
- VALTIS (J.). — Tubercle. *London*, 18, 57, 105.
- VAN ES. — *Berl. terarztl. Wochensh.*, 1914, 575.
- VILLEMEN (J.). — Etudes sur la tuberculose. *Baillière et fils*, 1868.
- WEBER et BOFINGER. — Bedeutung der Rinderbacillen fur den Menschen. *Tuberc. Arbeit*. Berlin, I, 83.
- ZAHN. — Thèse, Tubingen, 1884. Chez *Sweizerbart*, Stuttgart.

TABLE DES MATIERES

HISTORIQUE ET INTRODUCTION	7
CHAPITRE PREMIER :	
I. — Caractéristiques du bacille tuberculeux	17
II. — Milieux pour repiquage des cultures ..	20
CHAPITRE II :	
Préparation des milieux	25
CHAPITRE III :	
Origine des souches	33
CHAPITRE IV :	
Etude détaillée de chaque souche sur les différents milieux	35
I. — Ensemencement	35
II. — Souche humaine	35
III. — Souche bovine	38
IV. — Souche aviaire	39
V. — Souche paratuberculeuse	42
CHAPITRE V :	
Durée de vie	47
CHAPITRE VI :	
Tableau comparatif succinct des caractères les plus typiques	49
Tableau général et récapitulatif	50-51
CONCLUSIONS	51
BIBLIOGRAPHIE	53

